

Badamy DNA

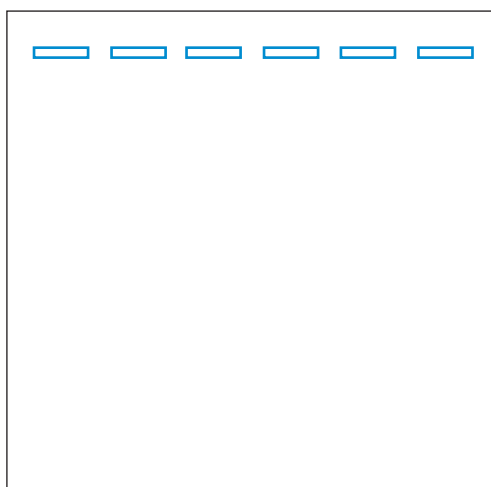
Cel doświadczenia: Rozdział elektroforetyczny produktów DNA

Sprzęt i odczynniki:

- 2 kawałki folii aluminiowej (3 cm x 5 cm) jako elektrody
- pudełko do elektroforezy z żelem agarozowym 0,8 %
- bufor do elektroforezy ok. 10 ml
- para kabelków z krokodylkami (czerwony i czarny)
- 4 baterie lub zasilacz
- probówka z barwnikiem do elektroforezy
- 5 próbek DNA do analizy (M, T, A, B, C)
- pipeta
- 12 końcówek jednorazowych do pipety

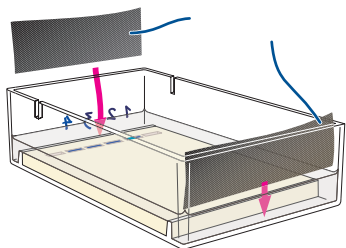
Przed przystąpieniem do doświadczenia postaw hipotezę badawczą

Narysuj schematycznie wyniki eksperymentu i opisz swoje spostrzeżenia:

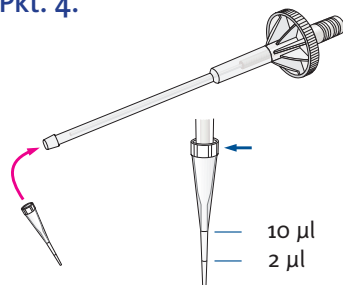


Próbki M i T to namnożone metodą PCR fragmenty D1S80 pochodzące z DNA od Matki (M) i Ojca (T). Wskaż, które z próbek A, B, C mogą pochodzić od dziecka / dzieci tych rodziców

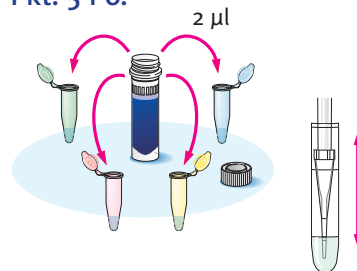
Pkt. 2.



Pkt. 4.



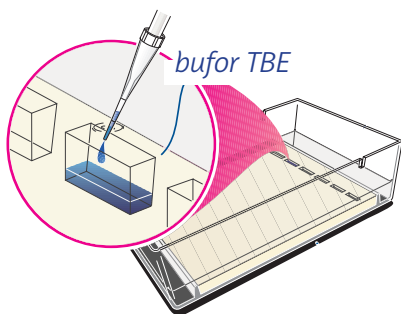
Pkt. 5 i 6.



Etap I – elektroforeza DNA w żelu agarozowym

1. Delikatnie wyjmij grzebyk z żelu.
2. Krótsze boki pudełka do elektroforezy obtóż folią aluminiową, folia powinna sięgać dna pudełka. Umieszczone wzdłuż przeciwnych boków pudełka paski folii postępują jako elektrody.
3. Żel zalej buforem do elektroforezy. Bufor powinien go całkowicie zakrywać 2 milimetrową warstwą.
4. Zawsze używaj pipetki z nałożoną końcówką jednorazową. Podziałka na końcówce wskazuje objętości: 2 µl i 10 µl.
5. Do próbek **M**, **T**, **A**, **B**, **C** zawierających próbki DNA dodaj, przy pomocy pipetki z jednorazową końcówką, 2 mikrolitry barwnika do elektroforezy.
6. Wymieszaj wciągając i wypuszczając delikatnie pipetką całą zawartość próbki. Przygotowana w ten sposób próbka jest gotowa do nakładania na żel.

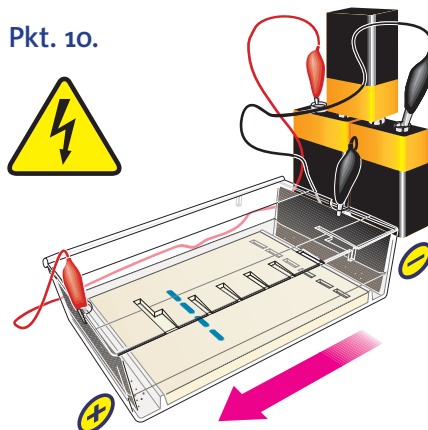
Pkt. 8.



7. Nabierz całość mieszaniny DNA z barwnikiem (ok. 12 µl) do jednorazowej końcówki.
8. Delikatnie włóż końcówkę pipetki do dołka w żelu. Powoli naciskając tłoczek wypuść próbkę do dołka. Próbka powinna opaść na dno pod własnym ciężarem. Nakładaj w ten sposób do kolejnych dołków w żelu próbki: **M**, **T**, **A**, **B**, **C** oraz 10 µl standardu DNA. Pamiętaj za każdym razem o zmianie jednorazowej końcówki!
9. Połącz cztery baterie w ogniwo: „+” jednej baterii z „-” następnej.

10. Podłącz żel do baterii: czerwony kabelek podłącz do „+” baterii i elektrody na dole żelu (po przeciwnej stronie niż dołki), czarny do „-”, ogniwa i elektrody na górze żelu (po tej stronie, co dołki). Po prawidłowym podłączeniu ogniwa do elektrod wokół elektrod powinny zacząć gromadzić się pęcherzyki gazu, a nałożone próbki zaczną powoli wędrować na dół żelu. Świadczy to o przepływie prądu. **Uwaga!** Nie wolno dotykać podłączonego do prądu aparatu!!!
11. Prowadź elektroforezę do momentu, kiedy barwnik przewędruje około połowę długości żelu. Odepnij baterie.

Pkt. 10.



Etap II – Barwienie DNA

1. Zlej bufor z pudełka z żelem. Usuń elektrody. Następnie przepłucz żel w pudełku zimną wodą (może być z kranu). Wylej wodę.
2. Zalej żel roztworem barwnika AZUR A (**Uwaga!** Pamiętaj o rękawiczkach – barwnik silnie brudzący!!!). Cała powierzchnia żelu powinna być pokryta cienką warstwą barwnika. Pozostaw na 3 minuty. Zlej barwnik z powrotem do butelki. *Azur A może być używany kilkakrotnie.*
3. Przepłucz 2-3 krotnie żel zimną wodą. Wylej wodę. Pozostaw żel na minimum 10 minut. Maksymalnie wybarwiony żel będzie można oglądać po paru godzinach. Porównaj wielkość długość fragmentów DNA z próbek **M**, **T**, **A**, **B**, **C** ze standardem wielkości.